15

## REVENDICATIONS.

- Bactéries du type Alteromonas , productrices de polysaccharides , caractérisées en ce qu'elles se distinguent de Alteromonas macleodi en ce qu'elles :
  - assimilent les substrats suivants : succinate et D-ribose ,
- n'assimilent pas les substrats suivants : DL glycé-rate, caprate, pyruvate , N-acétylglucosamine,
   DL-lactate, D-mannitol, D-xylose, n-propanol et L-sérine.
  - 2. Bactéries selon la revendication 1, caractérisées en ce qu'elles se distinguent de A. colwellii par le fait que :
  - leur temps de génération à 25°C et sur milieu Marine Broth est inférieur au moins de moitié à celui de A. colwellii,
- répondent négativement aux tests indole et 20 nitrate réductase et positivement au test  $\beta$ galactosidase (ONPG),
  - produisent une acidification en culture en présence d'un des substrats suivants : arbutine, tréhalose, saccharose, cellobiose et mannose.
- 25 3. Bactéries selon l'une des revendications l et 2 , caractérisées en ce qu'elles se distinguent de Alteromonas vaga en ce qu'elles:
  - ont une croissance à 40°C
- sont productrices d'amylase, de gélatinase et 30 de lipase
  - assimilent les substrats suivants :saccharose , mélibiose, lactose, L-tyrosine, salicine et L-leucine,
- n'assimilent pas les substrats suivants :N acétylglucosamine, D-mannitol, citrate, sarcosine,
   putrescine, D-sorbitol, DL-malate, α-céto-glutarate,

10

15

20

30

m-hydroxybenzoate, p-hydroxybenzoate, pyruvate, L-arabinose et D-arabinose.

- 4 . Bactéries selon l'une des revendications 1 à 3 , caractérisées en ce qu'elles produisent des polysaccharides contenant du galactose et présentant des rapports molaires par rapport à cet ose compris entre 0,6 et 1,2 pour le rhamnose, compris entre 1 et 2 pour le mannose, compris entre 1,1 et 1,5 pour le glucose, compris entre 0,4 et 0,6 pour l'acide glucuronique, inférieur à 0,07 pour la N-acétyl galactosamine, et inférieur à 0,04 pour la N-acétyl glucosamine.
- 5 . Souche de bactérie selon la revendication 4 , caractérisée en ce qu'elle a été déposée sous le n° I-1283 auprès de la CNCM .
- 6. Bactéries selon l'une des revendications 1 à 3 , caractérisées en ce qu'elles produisent des polysaccharides contenant du galactose et présentant des rapports molaires par rapport à cet ose , compris entre 0,2 et 1,4 pour le rhamnose, compris entre 0,1 et 0,4 pour le mannose, compris entre 3,3 et 10,2 pour le glucose, et
- 7. Souche de bactérie selon la revendication 6 25 , caractérisée en ce qu'elle a été déposée sous le n' I-1287 auprès de la CNCM .

compris entre 0,06 et 0,1 pour l'acide glucuronique.

- 8. Bactéries selon l'une des revendications 1 à 3, caractérisées en ce qu'elles produisent des polysaccharides contenant du galactose et présentant des rapports molaires par rapport à cet ose compris entre 0,7 et 0,9 pour le glucose, compris entre 0,3 et 0,4 pour l'acide glucuronique, et compris entre 0,1 et 0,3 pour l'acide galacturonique.
- 9. Souche de bactérie selon la revendication 8 35 , caractérisée en ce qu'elle a été déposée sous le n°

10

I-1282 auprès de la CNCM .

- 10. Bactéries selon l'une des revendications l à 3, caractérisées en ce qu'elles produisent des polysaccharides contenant du galactose et présentant des rapports molaires par rapport à cet ose compris entre 0,3 et 0,5 pour le rhamnose, compris entre 0,4 et 0,6 pour le mannose compris entre 1 et 1,8 pour le glucose compris entre 0,4 et 0,6 pour l'acide glucuronique, compris entre 0,1 et 0,3 pour l'acide galacturonique.
- 11. Souche de bactérie selon la revendication 10, caractérisée en ce qu'elle a été déposée sous le n° I-1284 auprès de la CNCM.
- 12. Bactéries selon l'une des revendications 1
  à 3 , caractérisées en ce qu'elles produisent des polysaccharides contenant du galactose et présentant des rapports molaires par rapport à cet ose compris entre 0,2 et 0,3 pour le rhamnose, compris entre 0,2 et 0,4 pour le mannose

  20 compris entre 0,5 et 1,1 pour le glucose
  - compris entre 0,5 et 1,1 pour le glucose compris entre 0,1 et 0,3 pour l'acide glucuronique, et compris entre 0,1 et 0,3 pour l'acide galacturonique.
- 13. Souche de bactérie selon la revendication 12, caractérisée en ce qu'elle a été déposée sous le n°I-1285 auprès de la CNCM.
  - 14. Bactéries selon l'une des revendications l à 3 , caractérisées en ce qu'elles produisent des polysaccharides contenant du galactose et présentant des rapports molaires par rapport à cet ose
- compris entre 0,9 et 1,1 pour le mannose, et compris entre 0,9 et 1,1 pour le glucose.
  - 15. Souche de bactérie selon la revendication 14 , caractérisée en ce qu'elle a été déposée sous le n° I-1286 auprès de la CNCM.
- 35 16. Produits issus d'une bactérie ou d'une

WO 94/18340 PCT/FR94/00169

5

20

25

30

souche de bactérie selon l'une quelconque des revendications 1 à 15.

- 17. Polysaccharides susceptibles d'être isolés à partir d'une bactérie ou d'une souche de bactérie selon l'une quelconque des revendications 1 à 15.
- 18. Polysaccharide selon la revendication 17, caractérisé en ce qu'il contient du galactose et présente

des rapports molaires par rapport à cet ose

compris entre 0,6 et 1,2 pour le rhamnose,
compris entre 1 et 2 pour le mannose,
compris entre 1,1 et 1,5 pour le glucose,et
compris entre 0,4 et 0,6 pour l'acide glucuronique,
inférieur à 0,07 pour la N-acétyl galactosamine, et
inférieur à 0,04 pour la N-acétyl glucosamine.

- 19. Polysaccharide selon la revendication 18, caractérisé en ce qu'il est substitué par des groupements acétyle et/ou pyruvyle.
- 20. Polysaccharide selon l'une des revendications 18 et 19 , caractérisé en ce qu'il présente une masse inférieure à 10<sup>6</sup>D.
- 21. Polysaccharide selon la revendication 17, caractérisé en ce qu'il contient du galactose et présente des rapports molaires par rapport à cet ose, compris entre 0,2 et 1,4 pour le rhamnose, compris entre 0,1 et 0,4 pour le mannose, compris entre 3,3 et 10,2 pour le glucose, et compris entre 0,06 et 0,1 pour l'acide glucuronique.
- 22. Polysaccharide selon la revendication 21, caractérisé en ce qu'il est substitué par des groupements acétyle.
  - 23. Polysaccharide selon l'une des revendications 21 et 22 , caractérisé en ce qu'il présente une masse de l'ordre de  $10^6$  D.
- 35 24. Polysaccharide selon la revendication 17,

15

20

25

30

caractérisé en ce qu'il contient du galactose et présente

des rapports molaires par rapport à cet ose compris entre 0,7 et 0,9 pour le glucose,

- 5 compris entre 0,3 et 0,4 pour l'acide glucuronique, et compris entre 0,1 et 0,3 pour l'acide galacturonique.
  - 25. Polysaccharide selon la revendication 24, caractérisé en ce qu'il comprend un acide hexuronique de structure furanique substitué sur son carbone en position 3 par un résidu lactyle.
  - 26. Polysaccharide selon la revendication 25, caractérisé en ce que le rapport molaire de l'acide hexuronique au galactose est compris entre 0,1 et 0,5.
  - 27. Polysaccharide selon l'une des revendications 25 et 26 , caractérisé en ce qu'il présente une masse de l'ordre de 4.10<sup>6</sup> D.
    - 28. Polysaccharide selon l'une des revendications 25 à 27, caractérisé en ce que les liaisons entre les oses sont réalisées sur le carbone en position 4 du glucose, les carbones en positions 3, ou 4 et 6 du galactose et les carbones en positions 4 ou 3 de l'acide glucuronique.
    - 29. Polysaccharide selon l'une des revendications 25 à 28 , caractérisé en ce qu'il est ramifié par l'intermédiaire d'un résidu galactose présentant des liaisons en positions 4 et 6.
    - 30. Polysaccharide selon l'une des revendications 25 à 29 , caractérisé en ce qu'il comprend des répétitions d'enchaînements constituées de 3 galactoses, l glucose, 2 acides glucuroniques, l acide galacturonique et l acide hexuronique de structure furanique , substitué sur son carbone en position 3 par un résidu lactyle.
- 31. Polysaccharide selon l'une des revendications 24 à 30 , caractérisé en ce qu'il est

15

20

25

30

35

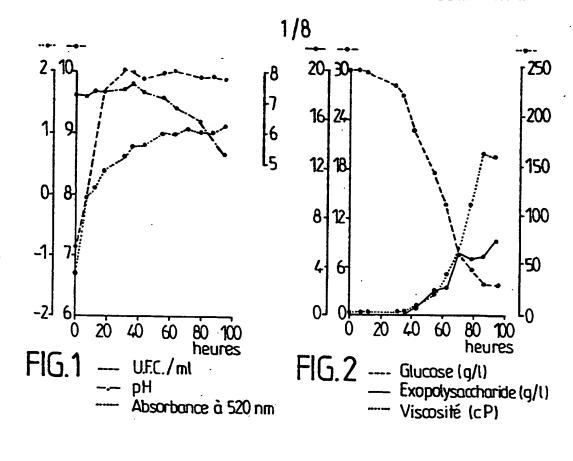
substitué par des groupements acétyle.

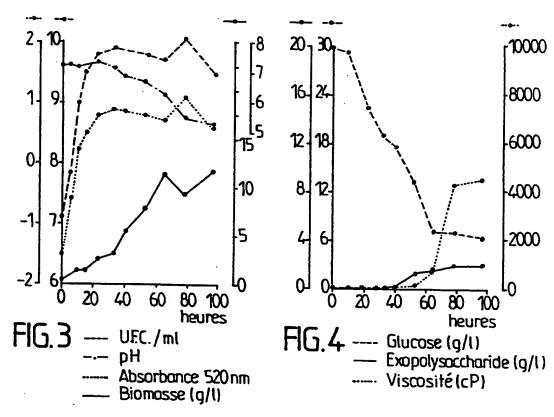
- 32. Polysaccharide selon la revendication 17, caractérisé en ce qu'il contient du galactose et présente des rapports molaires par rapport à cet ose compris entre 0,2 et 0,3 pour le rhamnose, compris entre 0,2 et 0,4 pour le mannose compris entre 0,5 et 1,1 pour le glucose compris entre 0,1 et 0,3 pour l'acide glucuronique, et compris entre 0,1 et 0,3 pour l'acide galacturonique.
- 33. Polysaccharide selon la revendication 32 , caractérisé en ce qu'il contient un acide hexuronique substitué sur son carbone en position 3 par un résidu lactyle.
  - 34. Polysaccharide selon l'une des revendications 32 et 33, caractérisé en ce qu'il présente une masse comprise entre 5.10<sup>5</sup> et 2.10<sup>6</sup>D.
    - 35. Polysaccharide selon la revendication 17, caractérisé en ce qu'il contient du galactose et présente des rapports molaires par rapport à cet ose compris entre 0,9 et 1,1 pour le mannose, et compris entre 0,9 et 1,1 pour le glucose.
      - 36. Hexose présentant la formule suivante :

$$R_{2}O - CH$$
 $CH_{3} - CH$ 
 $CH_{3} - CH$ 
 $CO - OR_{3}$ 
 $CO - OR_{3}$ 

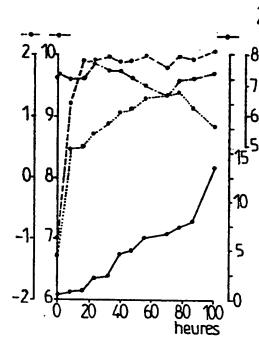
dans laquelle  $R_1$  à R4 représentent chacun un atome d'hydrogène et  $OR_5$  représente la liaison osidique avec les autres sucres.

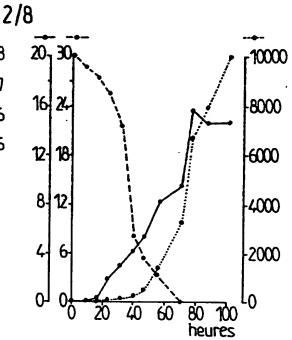
- 37. Hexose selon la revendication 36 , caractérisé en ce qu'il est susceptible d'être compris dans le polysaccharide selon l'une des revendications 25 et 33.
- 5 38. Application des produits et polysaccharides selon l'une quelconque des revendications 16 à 35 pour traitement de milieux contenant des ions métalliques, par exemple des ions calcium ou de métaux lourds ( plomb, cadmium et mercure ) ou de certains 10 radionucléides ( uranium, thorium), le milieu traiter, avantageusement sous forme de solution ou de suspension, étant mis en présence avec une quantité efficace d'au moins un desdits produits polysaccharides après quoi sépare on de 15 . conventionnelle le milieu épuré et le(s) polysaccharide(s) chargé(s) des ions métalliques à éliminer.
- 39. Application des produits et polysaccharides selon l'une quelconque des revendications 16 à 35 , à titre d'agents thérapeutiques ou de diagnostic , en particulier en raison de leurs pouvoirs anticoagulant et/ou antithrombotique, pour le traitement préventif ou curatif d'affections liées au sang et à la circulation sanguine.



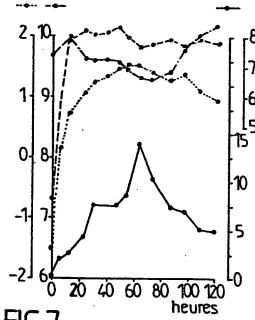


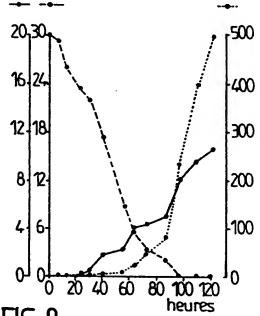
FEUILLE DE REMPLACEMENT (REGLE 26)





- FIG.5 --- U.F.C./ml --- pH ---- Absorbance à 520nm --- Biomasse (g/l)
- FIG.6 Glucose (g/l) Exopolysaccharide (g/l) Viscosité (cP)



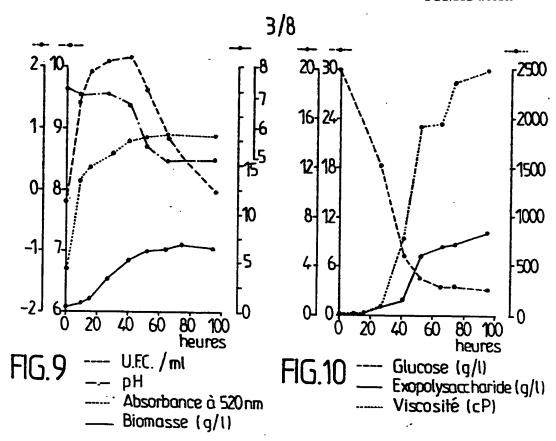


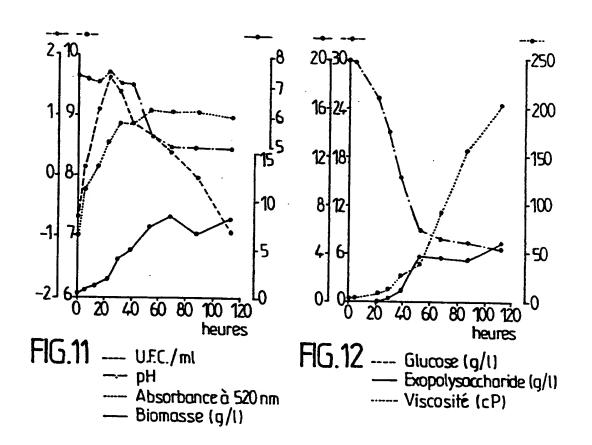
heures

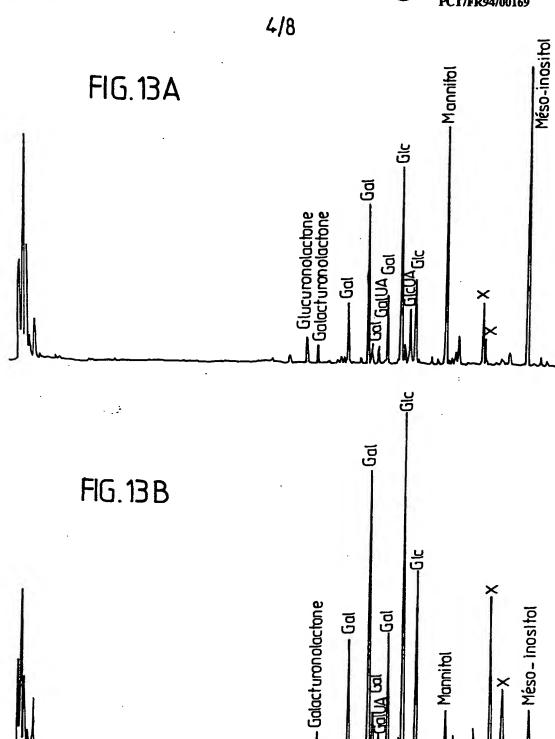
--- U.EC./ml
--- pH
---- Absorbance à 520nm
--- Biomasse (g/1)

FIG.8 ---- Glucose (g/l)
---- Exopolysaccharide (g/l)
---- Viscosité (cP)

FEUILLE DE REMPLACEMENT (REGLE 26)







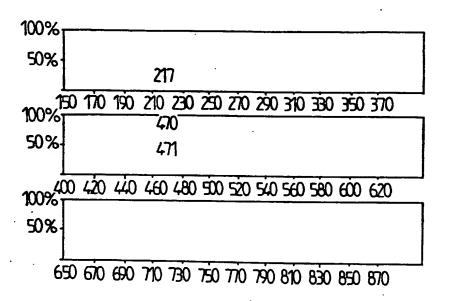


FIG.14A

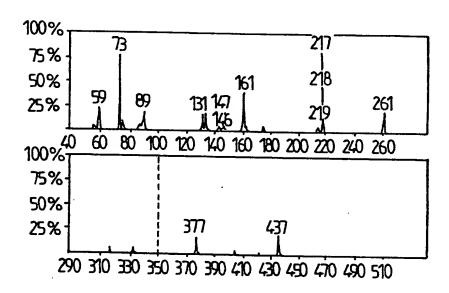


FIG.14B

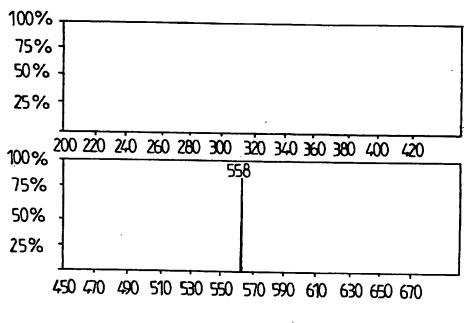


FIG.15A

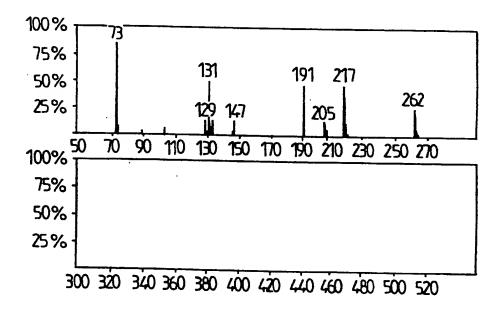
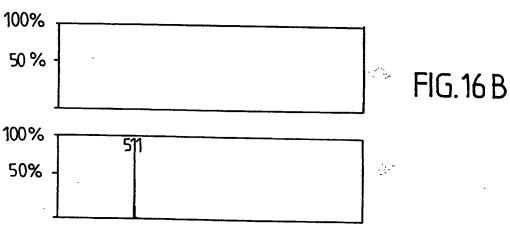
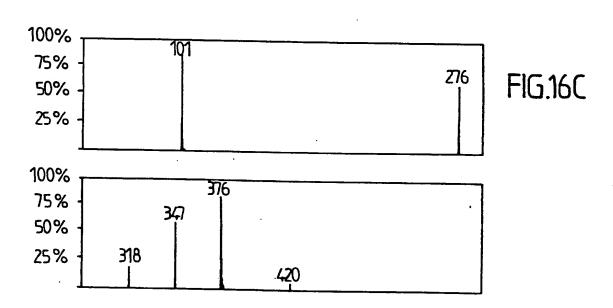


FIG.15 B

FEUILLE DE REMPLACEMENT (REGLE 26)





FEUILLE DE REMPLACEMENT (REGLE 26)

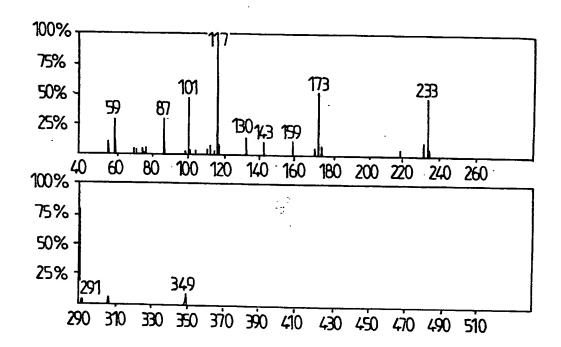


FIG. 17

A. CLASSEMENT DE L'OBIET DE LA DEMANDE CIB 5 C12P19/04 C12P19/26

Selon la classification internationale des brevets (CIB) ou à la fois selon la classification nationale et la CIB

B. DOMAINES SUR LESQUELS LA RECHERCHE A PORTE

Documentation minimale consultée (système de classification suivi des symboles de classement)
CIB 5 C12P

Documentation consultée autre que la documentation minimale dans la mesure où ces documents retévent des domaines sur lesquels a porté la recherche

Base de données électronique consultée au cours de la recherche internationale (nom de la base de données, et si cela est réalisable, termes de recherche utilisés)

Catégorie *	Identification des documents cités, avec, le cas èchéant, l'indication des passages pertinents	no. des revendications visées
٨	EP,A,O 084 333 (MICROBIAL CHEMISTRY RESEARCH FOUNDATION) 27 Juillet 1983 voir le document en entier & JP,A,58 121 798 () cité dans la demande	1-35,38, 39
A	US,A,4 740 466 (R.M. WEINER ET AL.) 26 Avril 1988 voir colonne 6, ligne 65 - colonne 7, ligne 3 voir colonne 12, ligne 61 - colonne 13, ligne 7  -/	1,16,17, 38,39

<u> </u>	<del></del>
* Catégories spéciales de documents cités:  *A* document définissant l'état général de la technique, non considéré comme particulièrement pertinent	"I" document ultirieur publié après la date de dépôt international ou la date de priorité et n'appartemenant pas à l'état de la technique perinent, mais cité pour comprendre le principe ou la théorie constituant la base de l'invention
"E" document antérieur, mais publié à la date de dépôt international ou après cette date  "L" document pouvant jeter un doute sur une revendication de priorité ou cité pour déterminer la date de publication d'une autre citation ou pour une raison spéciale (telle qu'indiquée)  "O" document se référant à une divulgation orale, à un usage, à une exposition ou tous autres moyens  "P" document publié avant la date de dépôt international, mais postérieurement à la date de priorité revendiquée	"X" document particulièrement pertinent; l'invention revendiquée ne peut être considérée comme nouvelle ou comme impliquant une activité inventive par rapport au document considéré isolèment "Y" document particulièrement pertinent; l'invention revendiquée ne peut être considérée comme impliquant une activité inventive lorsque le document est associé à un ou plusieurs autres documents de même nature, cette combinaison étant évidente pour une personne du mêtier "à" document qui fait partie de la même famille de brevets
Date à laquelle la recherche internationale a été effectivement achevée  25 Mai 1994	Date d'expédition du présent rapport de recherche internationale 27-06-1994
Nom et adresse postale de l'administration chargée de la recherche international Office Européen des Brewets, P.B. 5818 Patendaan 2 NL - 2280 HV Rijswijk Tel. (+ 31-70) 340-2040, Tx. 31 651 epo nl, Fan (+ 31-70) 340-3016	De Kok. A

Formulaira PCT/ISA/210 (descrième faville) (juillet 1992)

X Voir la suite du cadre C pour la fin de la liste des documents

Les documents de familles de brevets sont indiqués en annexe

## RAPPORT DE RECHERCHE INTERNATIONALE

PCT/FR 94/00169

		PCT/FR 9	34/00169
C.(suite) D Catègorie *	OCUMENTS CONSIDERES COMME PERTINENTS  Identification des documents cités, avec, le cas échéant, l'indication des passages pertin	ents	no, des revendications vistes
	parago para	<del>-</del>	
A	FOOD HYDROCOLLOIDS, vol.5, no.1/2, 1991, NEW YORK US pages 171 - 172 F.TALMONT ET AL. cité dans la demande voir le document en entier		1-3
A	KIELER MEERESFORSCHUNG, SONDERHEFT, vol.8, 1991, KIEL DE pages 188 - 192 P.VINCENT ET AL. cité dans la demande voir le document en entier		1
		:	
	-	i	

1

## RAPPORT DE RECHERCHE INTERNATIONALE Renseignements relatifs aux de familles de brevets

PC-7FR 94/00169

Document brevet cité ur rapport de recherche	Date de publication	Membre(s) de la famille de brevet(s)	Date de publication
EP-A-0084333	27-07-83	JP-C- 1337297 JP-A- 58121798 JP-B- 61000361	11-09-86 20-07-83 08-01-86
JP-A-58121798	20-07-83	JP-C- 1337297 JP-B- 61000361 EP-A,B 0084333	11-09-86 08-01-86 27-07-83
US-A-4740466	26-04-88	CA-A- 1325394 US-A- 5047344	21-12-93 10-09-91

Formulaire PCT/ISA/218 (annexe familles de brevets) (juillet 1992)

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER
IPC 5 C12P19/04 C12P19/26 According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC B. FIELDS SEARCHED Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols) IPC 5 C12P Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practical, search terms used) C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT Category \* Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages Relevant to claim No. EP,A,O 084 333 (MICROBIAL CHEMISTRY 1-35,38, RESEARCH FOUNDATION) 27 July 1983 39 see the whole document & JP, A, 58 121 798 (...) cited in the application US,A,4 740 466 (R.M. WEINER ET AL.) 26 1,16,17, April 1988 38,39 see column 6, line 65 - column 7, line 3 see column 12, line 61 - column 13, line 7 A FOOD HYDROCOLLOIDS, 1-3 vol.5, no.1/2, 1991, NEW YORK US pages 171 - 172 F.TALMONT ET AL. cited in the application see the whole document -/--Further documents are listed in the continuation of box C. Patent family members are listed in annex. Special categories of cited documents: "I" later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the 'A' document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance "E" earlier document but published on or after the international "X" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to filing date "L" document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified) involve an inventive step when the document is taken alone "Y" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art. "O" document referring to an oral disclosure, use, exhibition or Other mean document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed "&" document member of the same patent family Date of the actual completion of the international search Date of mailing of the international search report 27 -06- 1994 25 May 1994 Name and mailing address of the ISA Authorized officer European Patent Office, P.B. 5818 Patentiaan 2 NL - 2280 HV Rijswijk Td. (+31-70) 340-2040, Tz. 31 651 epo nl, De Kok, A Fax (+31-70) 340-3016

Form PCT/ISA/218 (second sheet) (July 1992)

1

		PCT/FR 94/00169			
C.(Continuation) DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT					
Category *	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.			
A	KIELER MEERESFORSCHUNG, SONDERHEFT, vol.8, 1991, KIEL DE pages 188 - 192 P.VINCENT ET AL. cited in the application see the whole document	1			
	•				
Ì					
	•				
	·				
-					
ĺ					
		•			

## INTERNATIONAL SEARCH REPORT

rmation on patent family members

I national application No. PCT/FR 94/00169

Patent document cited in search report	Publication date	Patent family member(s)	Publication date
EP-A-0084333	27-07-83	JP-C- 1337297 JP-A- 58121798 JP-B- 61000361	20-07-83
JP-A-58121798	20-07-83	JP-C- 1337297 JP-B- 61000361 EP-A,B 0084333	08-01-86
US-A-4740466	26-04-88	CA-A- 1325394 US-A- 5047344	